

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МНОГОМЕРНОЙ СТАТИСТИКИ ПРИ ИДЕНТИФИКАЦИИ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

*Шилин В.Е., Черевняк А.Н., Булатова И.А., Коробкина Н.Г., Окулич В.К.
УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет»*

Введение. Инфекция в хирургии является одной из важнейших мировых проблем современного здравоохранения. Количество смертельных случаев в общей структуре летальности в хирургических стационарах в связи с инфекционными осложнениями достигает 42-60% [1].

У госпитализированных и негоспитализированных пациентов лидирующие позиции могут занимать энтеробактерии (60,8%), которые в 30,6% случаев представлены *E.coli*. Реже выделяются *K.pneumoniae* (25,7%) и *P.aeruginosa* (15,6%) [1].

Так как тест-системы импортного производства являются весьма дорогостоящими, что ограничивает их применение в отечественных бактериологических лабораториях, возникает необходимость разработки тест-систем отечественного производства для идентификации энтеробактерий.

Результаты и обсуждение. Нами создана тест-система «ИД-ЭНТЕР», предназначенная для биохимической идентификации микроорганизмов семейства энтеробактерий. Тест-система включает стандартный планшет содержащий 96

лунок с высушенными питательными средами и субстратами для 24 тестов с добавленным индикатором для: определения уреазной активности, утилизации L-арабита, галактурановой кислоты, маннита, мальтозы, сахарозы, арабинозы, D-арбита, глюкозы, трегалозы, рамнозы, инозита, адонитола, палатинозы, целлюбиозы, сорбитола, ксилозы, дульцита, определения активности соответствующих ферментов с использованием хромогенных субстратов: 4-нитрофенил-N-ацетил-βD-глюкозаминид, 4-нитрофенил-αD-глюкопиранозид, 4-нитрофенил-βD-галактопиранозид, 4-нитрофенил-αD-галактопиранозид, а так же утилизации натрия малоната и выработки индола (L-триптофан)

В качестве ридера адаптирован фотометр ВТЗ «Витязь» Ф300 для анализа результатов по цвету пробы в автоматическом режиме.

Разработана и зарегистрирована в Национальном центре интеллектуальной собственности программа NewId многомерной статистики для идентификации микроорганизмов с применением кластерного анализа (регистрационный № 015 от 13.02.08). Смысл его сводится к классификации многомерных наблюдений, каждое из которых описывается набором признаков, используя меру сходства (r) или расстояние между объектами (D). При этом учитываются все признаки одновременно [3]. В качестве расстояния между объектами выбрано евклидово расстояние.

В качестве многомерных наблюдений в программе используются данные из таблиц определителя бактерий Берджи [2, 4], в которых каждый микробный вид – это отдельное наблюдение (кластер), а набор признаков (24 биологические характеристики микроорганизма) – числовые значения вероятности наличия соответствующего признака. Эти наблюдения образуют множество эталонных точек в 24-мерном пространстве. Объекты, которые по набору признаков «похожи» друг на друга, принадлежат к одному кластеру. Критерием схожести и различия кластеров является расстояние между точками в 24-мерном пространстве. Анализируемый объект – штамм со своей таксономической характеристикой, также является точкой в этом многомерном пространстве и исследуется на близость до каждой эталонной точки. Расстояние рассчитывается

по формуле:
$$D_i = \sqrt{\sum_{j=1}^{24} (X_{ji} - X_j)^2}$$

Таким образом, в программе формируется идентификационная таблица: название микроорганизма, значения вероятностей активности для 24 тестов. При составлении таблицы проводится предварительная стандартизация переменных: вместо значений от 0 до 10 записывается «1», диапазону значений от 11 до 25 ставится в соответствие «2», от 26 до 75 – «3», от 76 до 89 – «4», от 90 до 100 – «5». Программа «New Id» интерпретирует полученный набор данных из символического в числовой ряд, и для каждого микроорганизма из таблицы находится евклидово расстояние по формуле. Полученный массив данных нормируется, представляется в виде % подобия и выстраивается в порядке убывания.

Нами было идентифицировано 53 штамма с помощью разработанных нами тест-системы «ИД-ЭНТЕР» с программным обеспечением «New Id».

Параллельно идентификация проводилась с помощью тест-систем производства «BioMérieux» с программным обеспечением на основе нумерического подхода.

Полное совпадение результатов в двух программах с точностью до вида – 88%. Соответственно приводим пример для иллюстрации идентификации клинического изолята 405/98. Результат, полученный с помощью программного обеспечения «BioMerieux» *Pseudomonas fluorescens*, с процентом идентификации 51,6, критерий Стьюдента 0,9. При использовании программы «New Id», которая так же дает результат *P. fluorescens*, % подобия 92, наименьшее евклидово расстояние 11. Противоречит определению данного вида микроорганизма положительный тест утилизации глюкозы в двух программах

При анализе результатов процент совпадений с точностью до рода и вида в двух программах - 97%. В данном случае возможно совпадение только рода и характерен следующий пример идентификации клинического изолята 404/98. Результат, полученный с помощью программного обеспечения «BioMerieux» *Enterobacter cloacae* с процентом идентификации 88,9; критерий Стьюдента 0,51. Противоречит определению данного вида микроорганизма положительный тест утилизации калия-5-кетоглюконата

При использовании программы «New Id» результат идентификации- *Enterobacter amnigenus*, % подобия 91, наименьшее евклидово расстояние 9,5 (тест утилизации калия-5-кетоглюконата в данной тест-системе отсутствует); а на втором месте определяет *Enterobacter cloacae* с % подобия 87, наименьшим евклидовым расстоянием 10,75

Полное несовпадение результатов идентификации в обеих программах составило 3%. В качестве примера приводим идентификацию клинического изолята 442/983.

Результат, полученный с помощью программного обеспечения «BioMerieux» *K. terrigena* с процентом идентификации 99,8, критерий Стьюдента 0,75. Противоречит определению данного вида микроорганизма положительный тест утилизации натрия пирувата

При использовании программы «New Id» результат идентификации *Enterobacter aerogenes*, % подобия 92, наименьшее евклидово расстояние 18 (тест утилизации натрия пирувата в данной тест-системе отсутствует). Противоречит определению данного вида микроорганизма отрицательный тест при определении галактозидазной активности.

Выводы. Создана тест-система «ИД-ЭНТЕР» и программное обеспечение NewId для идентификации энтеробактерий с хорошей специфичностью по сравнению с тест-системами импортного производства.

Литература:

1. Антибактериальная терапия в гнойной хирургии: Руководство / под ред. А. Н. Косинца – Витебск: ВГМУ, 2002 – 600 с
2. Определитель бактерий Берджи – в 2-х т.; пер. с англ. / под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли. – М.: Мир, 1997
3. Фотт Н.П., Бравичева О.С. Обоснование использования кластерного анализа для видовой идентификации стафилококков // Вестник ОГУ 3. – 2002.
4. Georg M Garrity. *Berge's Manual of Systematic Bacteriology* – Georg M Garrity // Published by Springer - 2nd Edition. New York, 2005